

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



REC'D 24 NOV 2000

WIPO PCT

DE 00/03104

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

9

Aktenzeichen:

199 44 404.8

Anmeldetag:

16. September 1999

Anmelder/Inhaber:

Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin,
Berlin/DE

Bezeichnung:

Mittel zur Therapie von menschlichen Erkrankungen
insbesondere für die Therapie von Tumoren wie Ko-
lonkarzinomen und Melanomen oder zur Gewebere-
generation und Förderung des Haarwuchses

IPC:

A 61 K 38/05

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 23. Oktober 2000
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Weller

Wehner





Beschreibung

Die Erfindung betrifft Mittel zur Therapie von menschlichen Erkrankungen auf der Basis von Substanzen, die die Bindung von β -Catenin an LEF-1/TCF-Transkriptionsfaktoren, APC oder Conductin verhindern. Bevorzugt sind diese Mittel zur Therapie von Tumoren wie Kolomkarzinomen und Melanomen oder zur Geweberegeneration und Förderung des Haarwuchses einsetzbar. Anwendungsgebiete der Erfindung sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie.

β -Catenin ist ein zytoplasmisches Protein mit verschiedenen Funktionen in der Zelle. Im Komplex mit den Zelladhäsionsmolekülen der Cadherin-Familie stellt β -Catenin die Verbindung zum Zytoskelett her (Hülsken, J. et al., E-cadherin and APC compete for the interaction with beta-catenin and the cytoskeleton. J-Cell-Biol. 127: 2061-9, 1994). Zusätzlich ist β -Catenin eine Komponente der Wnt-Signaltransduktion, die in der Embryonalentwicklung eine große Rolle spielt. Der Transkriptionsfaktor LEF-1 wurde als Interaktionspartner von β -Catenin in dieser Signalkaskade indentifiziert (Behrens, J. et al., Functional interaction of beta-catenin with the transcription factor LEF-1. Nature, 382: 638-42, 1996). Der Mechanismus der Signaltransduktion durch β -Catenin und LEF-1 ist geklärt: Er besteht in dem durch LEF-1 vermittelten Transport von β -Catenin in den Zellkern. Im Zellkern reguliert dieser Komplex die Genexpression durch die im Komplex veränderte, LEF-1 induzierte DNA-Biegung und durch die carboxy-terminale Transaktivierungsdomäne von β -Catenin. Inzwischen wurde gezeigt, daß auch andere Mitglieder der LEF-1/TCF-Familie von Transkriptionsfaktoren, z.B. TCF-4 diese Signaltransduktion vermitteln können (Korinek, V. et al., Constitutive transcriptional activation by a beta-catenin-Tcf complex in APC-/- colon carcinoma. Science, 275: 1784-87, 1997).

Voraussetzung für diese β -Catenin-abhängige Signaltransduktion ist die Stabilisierung des zytoplasmatischen Pools von freiem, nicht Cadherin-gebundenem β -Catenin. Dieser Pool wird durch die Glykogen-Synthetase-Kinase 3 β , durch das Tumorsuppressor-Genprodukt APC sowie durch Conductin/Axin negativ reguliert.

Für Karzinome und Melanome wurde gezeigt, daß Mutationen im N-Terminus von β -Catenin oder in der β -Catenin-Bindungsdomäne von APC diese Regulation aufheben (Morin, P.J. et al., Activation of beta-catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC. Science, 275: 1787-90, 1997). Als Konsequenz wird der β -Catenin-Pool stabilisiert. In Melanomen führt diese Stabilisierung zur LEF-1 vermittelten Translokation von β -Catenin in den Zellkern, während in Kolonkarzinomen vor allem TCF-4 diese Funktion erfüllt. Die transkriptionelle Aktivität des Komplexes in Karzinom-Zelllinien wurde durch die Aktivierung eines Reportergens belegt. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, daß diese Aktivität in APC-defizienten Kolonkarzinom-Zelllinien nach Wiedereinführung von APC inhibiert wurde. APC-Mutationen wurden in der überwiegenden Mehrheit von Kolonkarzinomen identifiziert, während nicht APC-defiziente Tumore Mutationen im β -Catenin-Gen aufweisen. Das Resultat dieser Mutationen von APC oder β -Catenin ist die Aktivierung der Signaltransduktion durch den β -Catenin-LEF/TCF-Komplex. Es unterstreicht die Schlüsselrolle von β -Catenin in der Tumorentstehung. Da APC-Mutationen als ein frühes Ereignis in der Entstehung von Kolontumoren identifiziert wurden, ist die Aktivierung des β -Catenin-LEF/TCF-Komplexes ein zentraler Schritt in der Tumorentstehung.

In der Maus wurde gezeigt, daß die Deletion des Gens für LEF-1 oder die Expression von β -Catenin-Mutanten, die gegenüber dem Abbau in der Zelle stabilisiert sind, unter anderem zur Störung der Entwicklung von Haarfollikeln führt. Interessanterweise führt die Expression von stabilisiertem β -Catenin zur Vermehrung der Anzahl der Haarfollikel (Gat U. et al., 1998. De novo hair follicle morphogenesis and hair

tumors in mice expressing a truncated beta-catenin in skin. Cell 95:605-14) und die Inaktivierung von LEF-1 zur Störung der Entwicklung von Haarfollikeln, Brustdrüsen und Zähnen (van Genderen et al., 1994. Development of several organs that require inductive epithelial-mesenchymal interactions is impaired in LEF-1-deficient mice. Genes Dev. 8:2691-703). Diese Befunde weisen darauf hin, daß der Komplex von LEF/TCF und β -Catenin an diesen Entwicklungsprozessen beteiligt ist.

Es wurde bereits versucht, die Schlüsselrolle von β -Catenin in der Tumorentstehung für die Entwicklung von Tumortheraeutika auszunutzen. In den USA wurden zwei Patentanmeldungen vorgenommen, die als WO-Schriften veröffentlicht wurden. In WO 98/41631 (John Hopkins Universität - B. Vogelstein) wird die Beeinflussung von Interaktionen von β -Catenin, TCF-4 und dem Tumorsuppressor-Protein APC mit dem Ziel der Verhinderung von Krebsentstehung beansprucht. Dabei wurde gezeigt, daß Produkte von mutierten APC-Genen, die in Kolorektal-Tumoren nachgewiesen wurden, die β -Catenin/TCF-4-Transkriptionsaktivierung nicht mehr regulieren können. Weiterhin weisen Kolorektal-Tumore mit intakten APC-Genen Aktivierungsmutationen von β -Catenin im N-Terminus auf, was die Funktion der wichtigen Phosphorylierungsorte beeinflußt. Daraus wird abgeleitet, daß die Regulierung von β -Catenin für den Tumorsuppressorwirkung von APC kritisch ist und daß diese Regulierung durch Mutationen in APC oder in β -Catenin umgangen werden kann. Der Hauptanspruch betrifft das intronfreie DNA-Molekül, welches für TCF-4 kodiert.

WO 98/42296 (Onyx Pharmaceuticals Inc. - Rubinfeld) betrifft Zusammensetzungen und Methoden zur Diagnose und zur Behandlung von Krankheiten, die durch β -Catenin/Transkriptionsfaktor-Interaktionen ausgelöst werden. Der Hauptanspruch betrifft das isolierte, stabilisierte β -Catenin und seine Fragmente, solche Fragmente sind allerdings nicht angegeben worden.

Im weiteren wurde vorgeschlagen, Peptide oder davon abgeleitete Strukturen, die aus β -Catenin oder seinen Interaktionspartnern stammen und die Interaktionen spezifisch beeinflussen, zu finden (DE 198 07 390.9 vom 21.02.98).

A Die hier beschriebene Erfindung hat zum Ziel, neue Mittel zur Behandlung von Karzinomen bzw. aberranter Gewebs- und Organentwicklung zur Verfügung zu stellen. Ihr liegt die spezielle Aufgabe zugrunde, die Interaktion von β -Catenin mit LEF/TCF-Transkriptionsfaktoren, APC und Conductin/Axin als Voraussetzung der Translokation und der Aktivität des Komplexes im Zellkern zu beeinflussen. Diese Aktivität muß spezifisch sein, d.h. sie darf nicht gleichzeitig mit anderen Interaktionen von β -Catenin interferieren.

Die Erfindung wird gemäß den Ansprüchen realisiert, wesentliche Basis der Erfindung ist das überraschende Auffinden von separaten essentiellen Bindungsstellen dieser Interaktionspartner im β -Catenin-Molekül.

Der Kerngedanke besteht besteht darin, (1.) basierend auf den Kristallstrukturdaten und Oberflächenberechnungen für β -Catenin nach hydrophoben Taschen in der Nähe der essentiellen Bindungsstellen von LEF-1/TCF, APC oder Conductin zu suchen. Eine solche hydrophobe Tasche benachbart zur LEF/TCF Bindungsstelle wurde gefunden und charakterisiert (2.) Die hydrophoben Taschen benachbart der essentiellen Bindungsstellen werden zur Computer-gestützten Findung von niedermolekularen Substanzen genutzt, die in diesen Taschen binden können. (3.) Diese Substanzen werden im ELISA mit rekombinantem β -Catenin und einzelnen Interaktionspartnern auf Inhibitionseffektivität getestet. (4.) Auf den Kristall-Strukturdaten von β -Catenin basierend sollen die Substanzen durch Einführung von Seitengruppen optimiert werden, die zusätzlich durch Wechselwirkung mit den benachbarten Aminosäure-Resten der essentiellen Bindungsstellen (z.B. der LEF/TCF-Bindungsstelle: Lys 435, Arg 469 und His 470; oder der APC-Bindungsstelle für die 20 Aminosäure-Repeat-Domäne:

Lys 345, Trp 383 oder der 15 Aminosäure-Repeat-Domäne; oder der Conductin-Bindungsstelle: Phe 253, His 260, Lys 292) in ihrer Bindung stabilisiert werden.

Im folgenden wird die Erfindung näher erläutert

In der ersten Realisierung der Erfindung wurden β -Catenin-Mutanten identifiziert, die die jeweilig essentielle Bindungsstelle für LEF-1/TCF-4, für die 20 Aminosäure-Repeats von APC oder für Conductin markieren (Abb. 1). Die Substitution basischer Aminosäure-Reste durch Alanin-Reste erzeugte diese Mutanten. Da die essentiellen Bindungsstellen der Faktoren in getrennten Subregionen von β -Catenin lokalisieren, werden Substanzen die in der Nachbarschaft dieser Bindungsstellen binden nur spezifisch jeweils eine Interaktion beeinflussen. Diese Substanzen können gemäß der Erfindung für die Tumorthherapie oder Geweberegeneration eingesetzt werden.

In einem zweiten Schritt wurden basierend auf den Röntgenkristall-Strukturdaten der Armadillo-Domäne von β -Catenin die Oberflächen in dieser Region berechnet. Durch Nutzung verschiedener Computerprogramme wie z.B. Grasp oder Ludi wurde eine hydrophobe Tasche in der Nähe der Bindungsstelle für LEF-1/TCF-4 identifiziert (umrandet von den Aminosäuren Val 358, Met 363, Ala 391, Ala 392, Thr 393, Lys 394, Gln 395, Met 398, Leu 401, Leu 402, Ile 423, Asn 426, Leu 427, Thr 428, Cys 429, Asn 430, Asn 431, Asn 434, Met 437, Val 438). Diese hydrophobe Tasche bildet ein ideales molekulares Ziel für die Generation von Substanzen, die in dieser Tasche binden und Kontakte zur dicht benachbarten essentiellen Bindungsstelle herstellen. Aus energetischen Gründen ist diese Bindung favorisiert, da keine Hydrathülle zur Bindung verdrängt werden muß. Es ist möglich, daß ein Phenylalanin-Rest von LEF/TCF (Phe 24 von LEF-1 oder Phe 21 von TCF-4), der normalerweise für die Bindung an β -Catenin essentiell ist (DE 199 09 251 vom 22.2.99, in dieser Tasche bindet. Somit könnten die Substanzen einzig durch die Bindung in der Tasche diesen Kontaktpunkt in β -Catenin blockieren.

In einem dritten Schritt wurden computergestützt niedermolekulare Substanzen aus Molekül-Datenbanken in diese Tasche eingepaßt und aufgrund der Anzahl der stabilisierenden Wechselwirkungen mit β -Catenin ausgewählt. Diese Substanzen werden unten genannt. Die Grundstrukturen dieser niedermolekularen Verbindungen sollen nach der experimentellen Überprüfung ihrer Inhibitions-Funktion (z.B. in einem ELISA) modifiziert werden, um ihre Funktion zu optimieren. Hierfür ist die Idee leitend, das die Modifikation der Substanzen z.B. durch Einführung saurer Gruppen, zusätzliche Wechselwirkungen mit den basischen Resten der Aminosäuren Lys 435, Arg 469 oder His 470 von β -Catenin ermöglicht. Da diese Reste die essentielle Bindungsstelle der LEF/TCF-Faktoren markieren, sollten diese zusätzlichen Wechselwirkungen die Effektivität der Substanzen verstärken.

Die Anwendung dieser Strategie auf alle essentiellen Bindungsstellen von β -Catenin ermöglicht die Generierung neuer Pharmaka, die durch spezifische Beeinflußung der jeweiligen Interaktion von β -Catenin z.B. mit den Transkriptionsfaktoren LEF/TCF, dem Tumorsuppressor-Genprodukt APC oder mit Conductin die Entwicklung von Tumoren inhibieren oder zur Regeneration der Haut und zur Förderung der Haarbildung eingesetzt werden. Diese Möglichkeiten der Beeinflußung ergeben sich aus den publizierten Befunden zur Funktion der jeweiligen Interaktion von β -Catenin mit seinen Bindungspartnern in diesen Entwicklungsprozessen.

Im Einzelnen wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

1. Identifizierung von separaten, essentiellen Bindungsstellen von β -Catenin für die Interaktion mit LEF-1/TCF-4, mit den 20 und 15 Aminosäure-Repeats von APC oder Conductin/Axin

Basierend auf der Röntgen-Kristall-Strukturanalyse der Armadillo-Domäne von β -Catenin (Huber et al., 1997) wurden ausgewählte basische und aromatische Aminosäure-Reste durch Alanin-Reste substituiert und die Punktmutanten auf

Interaktion mit den Bindungspartnern von β -Catenin im Hefe-2-Hybrid-System analysiert (Abb. 1). Die Mutationen, welche spezifische Interaktionen blockieren, bilden Cluster in separaten Subregionen der Domäne. Sie markieren die essentiellen Kontaktpunkte in den spezifischen Bindungsstellen für die Interaktion mit LEF/TCF (Lys 435, Arg 469, His 470), mit den 20 Aminosäure-Repeats von APC (Trp 383, Lys 345), mit den 15 Aminosäure-Repeats von APC (Arg 386), oder mit Conductin (Phe 253, His 260, Lys 292). Im neuen Patent werden die Interaktionsstellen, aufgrund neuer eigener Daten, erweitert (s. Abb 1).

2. Analyse der Moleküloberfläche von β -Catenin im Bereich der essentiellen Bindungsstelle für LEF/TCF

Ausgehend von den Daten zur Röntgenkristallstruktur von β -Catenin wurde mit den Programmen Grasp und Ludi die Moleküloberfläche im Bereich der Bindungsstelle berechnet. Es ist hierdurch gelungen eine hydrophobe Tasche zu identifizieren (Abb.2), die von den folgenden Aminosäuren umrandet ist: Val 358, Met 363, Ala 391, Ala 392, Thr 393, Lys 394, Gln 395, Met 398, Leu 401, Leu 402, Ile 423, Asn 426, Leu 427, Thr 428, Cys 429, Asn 430, Asn 431, Asn 434, Met 437, Val 438. Diese Tasche lokalisiert in engster Nachbarschaft zu der essentiellen Bindungsstelle für LEF/TCF. Sie ist von großer Bedeutung für die Computer-gestützte Durchmusterung von Substanzbibliotheken zur Selektion von Molekülen, die in dieser Tasche binden. Die Idee primär hydrophobe Wechselwirkungen in der Tasche zum Ausgangspunkt zu wählen, hat den energetischen Vorteil, das die Substanzen nicht mit der Hydrathülle der geladenen Aminosäure-Reste der Oberfläche kompetieren müssen. Diese Substanzen stellen somit nach gezielter Modifikation potente Therapeutika zur Behandlung von Tumoren dar, da die Interaktion von LEF/TCF mit β -Catenin ein frühes Ereignis zur Entstehung von Tumoren darstellt. Sie werden experimentell auf ihre Fähigkeit zur Hemmung der onkogenen Interaktion getestet (ELISA) und modifiziert. Das molekulare Modellieren der Substanzen in der

Tasche basiert auf der Idee, die Wechselwirkungen in der Tasche selbst zu stabilisieren und zusätzliche Kontakte zu den essentiellen Aminosäure-Resten der LEF/TCF-Bindungsstelle zu schaffen. Durch diese Strategie sollen die Substanzen in ihrer Wirkung optimiert werden.

3. Identifizierung von Substanzen die in der hydrophoben Tasche binden

Es wurden Computer-gestützt Substanzbibliotheken durchmustert und deren Moleküle auf stabilisierende Wechselwirkungen in der hydrophoben Tasche ausgewählt. Die Grundstrukturen der gefundenen Moleküle bilden unterschiedliche Molekülklassen, die im folgenden dargestellt sind:

Die Erfindung soll nachfolgend durch Ausführungsbeispiele näher erläutert werden.

1. Herstellung und Testen von Mutanten von β -Catenin, die die essentiellen Bindungsstellen für LEF-1, APC und Conductin markieren.

Die Mutagenese von β -Catenin in den Armadillo-Repeats 3-8 wurde mit dem "Mutagenese Kit" der Firma Clontech nach dem Protokoll des Herstellers durchgeführt und die Mutanten durch Sequenzierung überprüft. In allen Mutanten wurde die ursprüngliche Aminosäure durch Alanin substituiert. Für die Analyse der Interaktionen wurde die für die Aminosäuren Leu218-Leu781 kodierende cDNA von humanen β -Catenin (Armadillo-Repeat 3 bis zum C-terminalen Ende des Proteins) oder seinen Mutanten in den Fusionsvektor für die Aktivierungsdomäne von Gal-4 (pGAD424, Clontech) kloniert.

Die cDNA für die Bindungsdomänen der Interaktionspartner wurde in den LexA-Fusionsvektor BTM116 kloniert. Hierfür wurde die cDNA von LEF-1 für die Aminosäuren 1-99, von Conductin für die Aminosäuren Ala342-Arg465, von humanen APC für die Aminosäuren His1012-Glu1215 (APC 15 Aminosäure-Repeats) und für die Aminosäuren Ser1259-Asp1400 (APC 20 Aminosäure-Repeats) mit entsprechenden Primern PCR amplifiziert. Die Interaktion der Lex-A-Hybride mit β -Catenin

und seinen Mutanten wurde anhand der β -Galaktosidase-Reporteraktivität im Hefe 2-Hybrid System (Protokoll: "Matchmaker", Clontech) quantifiziert (Abb.1).

2. Identifizierung einer hydrophoben Tasche in β -Catenin benachbart zur essentiellen Bindungsstelle für LEF-1. Zur Berechnung der Moleküloberfläche von β -Catenin wurden verschiedene die Computer-Programme wie z.B. Grasp und Ludi benutzt.

3. Identifizierung von Substanzen die in der hydrophoben Tasche bei der essentiellen Bindungsstelle für LEF-1 binden. Für die Suche von Substanzen die in der hydrophobe Tasche binden können wurden die verschiedenen Substanz-Bibliotheken und das Programm Grasp und Ludi benutzt.

Patentansprüche

1. Mittel zur Therapie von menschlichen Erkrankungen, enthaltend Substanzen, die die Bindung von β -Catenin an LEF-1/TCF-Transkriptionsfaktoren, APC oder Conductin verhindern.
 2. Verfahren zum Auffinden von Substanzen, die die Bindung von β -Catenin an LEF-1/TCF-Transkriptionsfaktoren, APC oder Conductin verhindern, dadurch gekennzeichnet, daß im β -Catenin-Molekül in Nachbarschaft zu essentiellen Bindungsstellen hydrophobe Taschen identifiziert und nachfolgend die in diese Tasche passenden therapeutischen Substanzen synthetisiert werden.
 3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß
 - β -Catenin-Mutanten identifiziert wurden, die die jeweilig essentielle Bindungsstelle für LEF-1/TCF-Transkriptionsfaktoren, APC oder Conductin markieren,
 - die Oberflächen in dieser Region basierend auf den Röntgenkristall-Strukturdaten der Armadillo-Domäne berechnet und dadurch die vorhandenen hydrophoben Taschen identifiziert werden,
 - niedermolekulare Verbindungen in diese Tasche eingepaßt und aufgrund der stabilisierenden Wechselwirkungen mit β -Catenin ausgewählt werden und
-
- diese Verbindungen ggf. durch Einführung saurer Gruppen weiter modifiziert werden.
 4. Verfahren nach Anspruch 2 und 3, dadurch gekennzeichnet, daß
 - die β -Catenin-Mutanten Lys 435, Arg 469, His 470, die die essentielle Bindungsstelle für LEF-1 markieren

- die β -Catenin-Mutanten Phe 253, His 260, Lys 292, die die essentielle Bindungsstelle für Conductin markieren

~~- die β -Catenin-Mutanten Trp 383, Arg 386, die die essentielle Bindungsstelle für APC markieren~~

identifiziert wurden,

- die Moleküloberfläche mit dem Programm Grasp, Ludi und ähnlichen Programmen berechnet wird,

- eine hydrophobe Tasche (umrandet von den Aminosäuren Val 358, Met 363, Ala 391, Ala 392, Thr 393, Lys 394, Gln 395, Met 398, Leu 401, Leu 402, Ile 423, Asn 426, Leu 427, Thr 428, Cys 429, Asn 430, Asn 431, Asn 434, Met 437, Val 438) benachbart zur LEF-1/TCF-Bindungsstelle identifiziert wurde,

- die Verbindungen (s. Patent-Liste) in die identifizierte hydrophobe Tasche eingepaßt, anschließend mit ELISA auf ihre Inhibition der Interaktion experimentell überprüft und durch Modifikation der Seitengruppen optimiert werden.

5. Mittel nach Anspruch 1 bis 4 zur Therapie von Tumoren, wie Kolonkarzinomen und Melanomen.

6. Mittel nach Anspruch 1 bis 4 zur Gewebsregeneration.

~~7. Mittel nach Anspruch 1 bis 4 zur Förderung des Haarwuchses.~~

Figuren Legenden

Abb.1 Identifizierung der essentiellen Bindungsstellen von β -Catenin für LEF-1, die 20 Aminosäure-Repeats von APC oder Conductin

Interaktion von β -Catenin-Mutanten mit LEF-1, APC (20 Aminosäure-Repeats) und Conductin im Hefe-2-Hybrid-System. Die durch Alanin substituierten Aminosäure-Reste in den β -Catenin-Mutanten und deren Position in den Arm-Repeats 3-8 sind unten angegeben. Die Interaktion wurde durch Bestimmung der β -Galaktosidase-Reporteraktivität quantifiziert und ist im Verhältnis zur Interaktion mit Wildtyp- β -Catenin angegeben.

Abb.2 Charakterisierung einer hydrophoben Tasche benachbart zur essentiellen Bindungsstellen von β -Catenin für LEF-1/TCF

(A) Aufsicht der hydrophoben Tasche in der Moleküloberfläche von β -Catenin (RasMol). Die Tasche wird durch die in orange oder gelb markierten Aminosäuren umrandet. Die Aminosäurereste der essentiellen Bindungsstelle für LEF/TCF sind blau markiert. Die entsprechenden Aminosäuren wurden gekennzeichnet. (B) Seitenansicht der hydrophoben Tasche.

Abb.3 Substanzen die in der hydrophoben Tasche von β -Catenin binden

(A) Oberflächendarstellung der Region der hydrophoben Tasche (Grasp). Die Aminosäurereste der essentiellen Bindungsstelle für LEF/TCF sind blau markiert (für die Mutationen, die die Interaktion von β -Catenin mit LEF/TCF blockieren: Lys435, Arg 469 und His 470). (B) Im β -Catenin-Molekül ist eine der niedermolekularen Substanzen dargestellt, die in der Tasche bindet.

Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin

Erfinder: W. Birchmeier, J.P. von Kries

Mittel zur Therapie von menschlichen Erkrankungen, insbesondere für die Therapie von Tumoren wie Kolonkarzinomen und Melanomen oder zur Geweberegeneration und Förderung des Haarwuchses

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft Mittel zur Therapie von menschlichen Erkrankungen auf der Basis von Substanzen, die die Bindung von β -Catenin an LEF-1/TCF-Transkriptionsfaktoren, APC oder Conductin verhindern. Sie betrifft insbesondere die Identifikation und Nutzung von hydrophoben Taschen auf der Moleküloberfläche mit dem Ziel, diese Substanzen zu optimieren. Sie betrifft ferner die Anwendung der Substanzen, bevorzugt für die Therapie von Tumoren wie Kolonkarzinomen und Melanomen oder zur Geweberegeneration und Förderung des Haarwuchses.

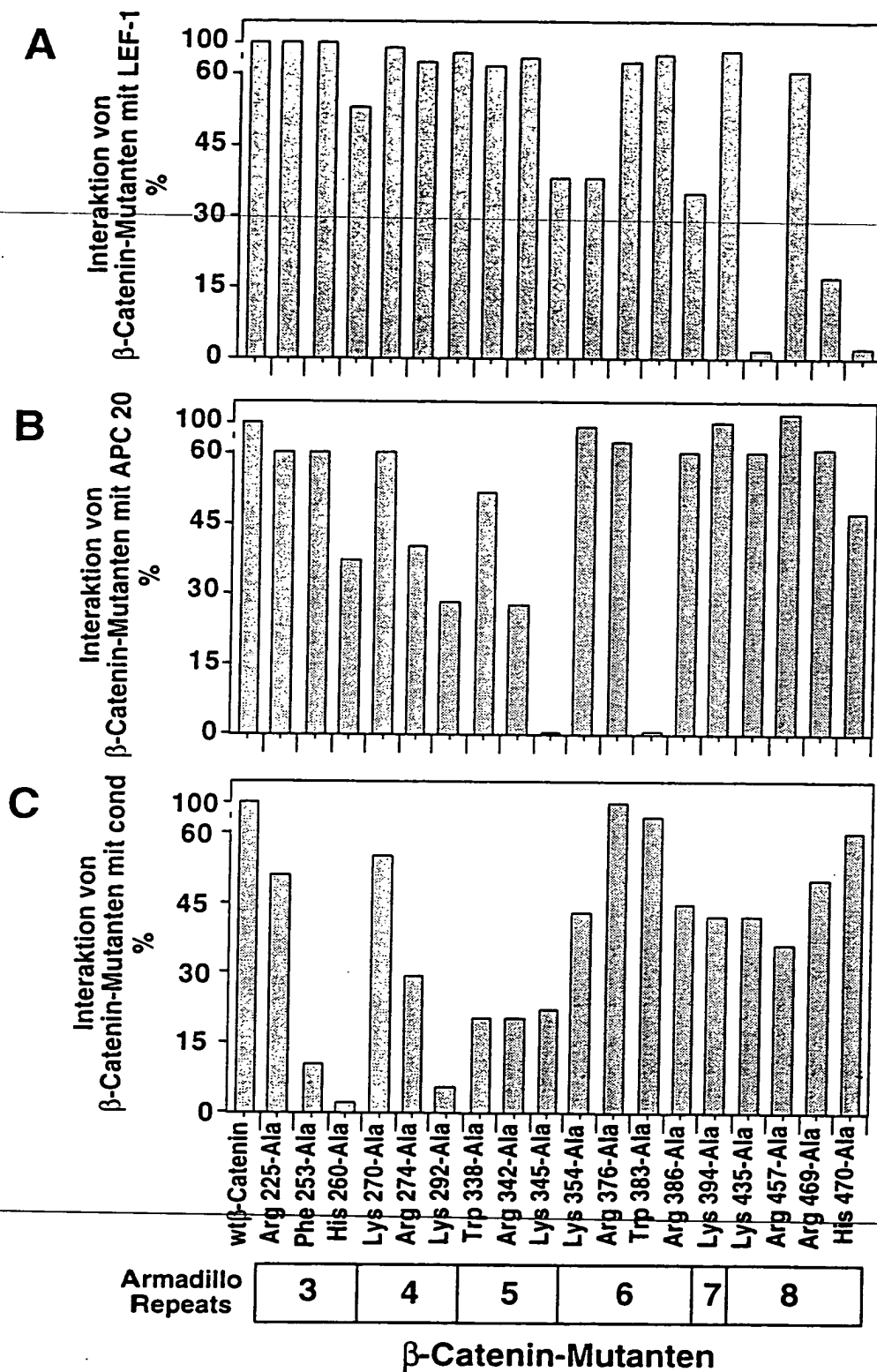
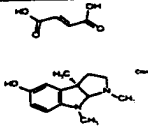
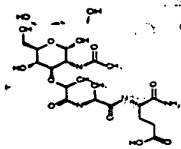
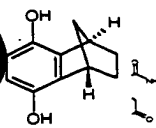
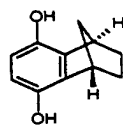
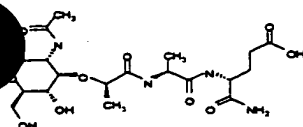
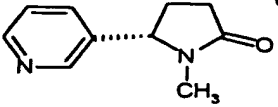
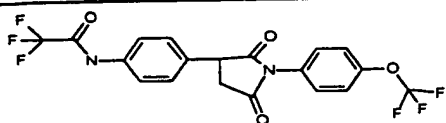


Abb. 1

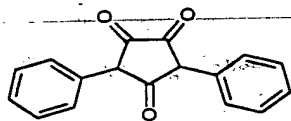
MOLSTRUCTURE	catalog data	MDLNUMBER
 ICN (-)-ESEROLINE FUMARATE 104015-29-4 STORAGE TEMPERATURE: 0-5 DEG C _F 153716 25 MG USD 74.55 _F 153716 50 MG USD 126.10 _F 153716 150 MG	MFCD00055202
 ADVCHEMTECH N-ACETYL-MURAMYL-ALA-ISOGLN-OH 59331-38-3 _F PR1081 5 MG USD 55.00 _F PR1081 25 MG USD 230.00 BACHEM AC-MURAMYL-ALA-L-ISOGLUTAM...	MFCD00065478
 ABCR 3,6-DIHYDROXYBENZONORBORNANE 16144-91-5 _F AV16643 1 G USD 29.43 96% _F AV16643 5 G USD 117.65 96% ACROS 3,6-DIHYDROXYBENZONORBORNA...	MFCD00077441
 ABCR 3,6-DIHYDROXYBENZONORBORNANE 16144-91-5 _F AV16643 1 G USD 29.43 96% _F AV16643 5 G USD 117.65 96% ACROS 3,6-DIHYDROXYBENZONORBORNA...	MFCD00077441
 ADVCHEMTECH N-ACETYL-MURAMYL-ALA-D-ISOGLN-OH 53678-77-6 _F PR1078 5 MG USD 55.00 _F PR1078 25 MG USD 230.00 BACHEM AC-MURAMYL-ALA-D-ISOGLUT...	MFCD00077638

	ALDRICH (-)-COTININE 486-56-6	IRRITANT																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				</
---	-------------------------------------	----------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----



MAYBRIDGE
N1-(4-[2,5-DIOXO-1-[4-(TRIFLUOROMETHOXY)PHENYL]TETRAHYDRO-1H-PYRROL-3-YL]PHENYL)-2,2,2-TRIFLUOROACETAMIDE

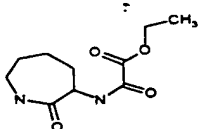
_F S 15091 UKL POA



MAYBR-INT
1,3-DIPHENYLCYCLOPENTANE-2,4,5-TRIONE

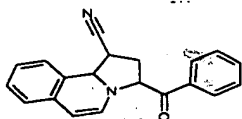
_F 99-1688 1 G UKL 19.50
_F 99-1688 2.5 G UKL 36.00

MAYBRIDGE
3,5-DIPHENYLCYCLOPENTANE-1,2,...



MAYBRIDGE
ETHYL 2-OXO-2-[(2-OXOAZEPAN-3-YL)AMINO]ACETATE

_F CD 10445 UKL POA

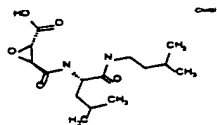


SALOR
3-BENZOYL-1,2,3,10B-TETRAHYDRO-PYRROLO(2,1-A)ISOQUINOLINE-1-CARBONITRILE

DATE: 04/01/97 EDITION: 97

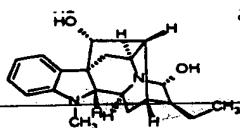
_F S97,735-7 25 MG USD POA

SALOR
3-BENZOYL-1,2,3,10B-TETRAHYD...



BACHEM
L-TRANS-EPOXYSUCCINYL-LEU-3-METHYLBUTYLAMIDE

E-64C CONTAINING 3-METHYLBUTYLAMINE INSTEAD OF AGMATINE, WAS FOUND TO REACT WITH THE ESSENTIAL THIOL GROUPS OF PAPAIN WHICH LED TO A LOSS OF ACTIVITY IT WAS ALSO SHOWN ...



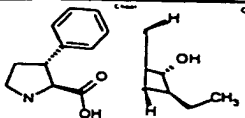
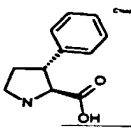
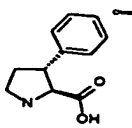
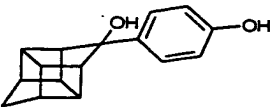
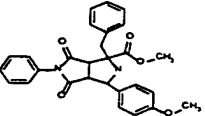
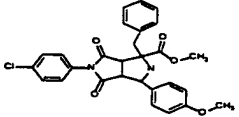
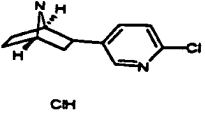
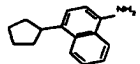
APIN-NP
AJMALINE
4360-12-7

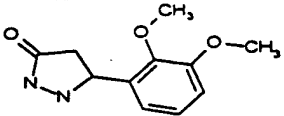
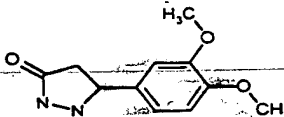
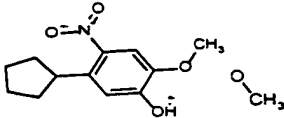
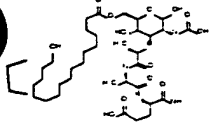
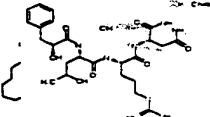
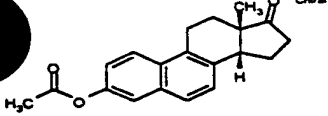
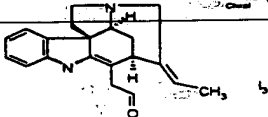
_FB SQ11673A USD POA

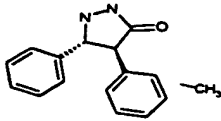
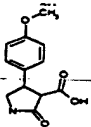
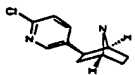
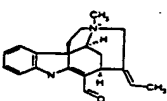
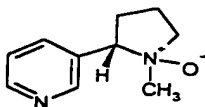
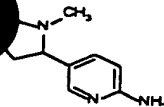
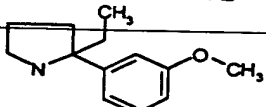
CARLROTH
AJMALIN
4360-12-7

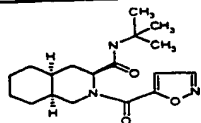
STANDARD FOR TLC

_F 5554.1 100 MG USD POA

 	<p>ACROS (2S,3R)-3-PHENYLPYRROLIDINE-2-CARBOXYLIC ACID</p> <p>_F 29008-1000 100 MG USD 141.10 98%</p> <p>KANTO (2S,3R)-3-PHENYLPYRROLIDINE-2-CARBOXYLIC ACID</p> <p>_F 29008-1A 100.MG...</p>	<p>MFCD00142984</p> 
	<p>SALOR 4-(2-HYDROXYOCTAHYDRO-1,3,4-METHENO-2H-CYCLOBUTA(CD)PENTALEN-2-YL)PHENOL</p> <p>DATE: 04/01/97 EDITION: 97</p> <p>_F S94,770-9 1 GM USD POA</p>	<p>MFCD00155174</p>
	<p>BIONET METHYL C-4-(4-METHOXYPHENYL)-2-BENZYL-7-PHENYL-6,8-DIOXO-3,7-DIAZABICYCLO[3.3.0]-OCTANE-R-2-CARBOXYLATE</p> <p>A SURCHARGE OF 2.00 USD PER SAMPLE APPLIES TO ORDERS SUPPLIED IN MICROTITRE PLATE FORMAT</p> <p>LIST 101</p> <p>_F 100.000</p>	<p>MFCD00202518</p>
	<p>BIONET METHYL C-4-(4-METHOXYPHENYL)-2-BENZYL-7-(4-CHLOROPHENYL)-6,8-DIOXO-3,7-DIAZABICYCLO[3.3.0]-OCTANE-R-2-CARBOXYLATE</p> <p>A SURCHARGE OF 2.00 USD PER SAMPLE APPLIES TO ORDERS SUPPLIED IN MICROTITRE PLATE FORMAT</p> <p>LIST 101</p>	<p>MFCD00202519</p>
	<p>CALBIO (+/-)-EPIBATIDINE DIHYDROCHLORIDE 162885-01-0</p> <p>A POTENT ANALGESIC WITH A NON-OPIOID MECHANISM OF ACTION</p> <p>ASSAY METHOD: BY TLC</p> <p>INDUCES THE RELEASE OF DOPAMINE AND NOREPINEPHRINE IN RATS</p> <p>LD50 OF <500 MG/KG</p> <p>POTEN...</p>	<p>MFCD00210196</p>
	<p>SALOR 4-CYCLOPENTYL-NAPHTHALEN-1-YLAMINE, HYDROCHLORIDE</p> <p>DATE: 04/01/97 EDITION: 97</p> <p>_F S27,864-5 10 MG USD POA</p>	<p>MFCD00227852</p>

	<p>SALOR 5-(2,3-DIMETHOXY-PHENYL)-PYRAZOLIDIN-3-ONE</p> <p>DATE: 04/01/97 EDITION: 97 _F S28,755-5 25 MG USD POA</p>	<p>MFCD00228403</p>
	<p>SALOR 5-(3,4-DIMETHOXY-PHENYL)-PYRAZOLIDIN-3-ONE</p> <p>DATE: 04/01/97 EDITION: 97 _F S30,270-8 25 MG USD POA</p>	<p>MFCD00229211</p>
	<p>SALOR 5-CYCLOPENTYL-2-METHOXY-4-NITRO-PHENOL</p> <p>DATE: 04/01/97 EDITION: 97 _F S32,976-2 10 MG USD POA</p>	<p>MFCD00230901</p>
	<p>BACHEM AC-(6-O-STEAROYL)-MURAMYL-ALA-D-ISOGLUTAMINE</p> <p>_F G-1065 1 MG USD 55.00 _F G-1065 5 MG USD 230.00</p>	<p>MFCD00236777</p>
	<p>BACHEM ANTHO-RNAMIDE</p> <p>ANTHO-RNAMIDE, ANOTHER NEUROPEPTIDE FROM THE SEA ANEMONE ANTHOPLEURA ELEGANTISSIMA, CONTAINS THE UNUSUAL N-TERMINAL L-BETA-PHENYLLACTYL GROUP WHICH MAY RENDER THIS PEPTIDE RESISTANT TO NON-SPECIFIC</p>	<p>MFCD00236789</p>
	<p>STERALIDS 1,3,5(10),6,8(14BETA)-ESTRAPENTAEN-3-OL-17-ONE ACETATE</p> <p>_F E451 5 MG USD 45.00</p>	<p>MFCD00271642</p>
	<p>LATOXAN NORFLUOROCURARINE</p> <p>A CNS STIMULANT; CONVULSANT; PROBABLY GLYCINERGIC ANTAGONIST ASSAY METHOD: BY TLC BIOLOGICAL ACTIVITY: FACILITATES THE NEUROTRANSMISSION AT SYNAPSES BETWEEN NEURONS OF THE SPINAL CORD BIOLOG...</p>	<p>MFCD00274483</p>

	MAYBRIDGE 4,5-DIPHENYLPYRAZOLIDIN-3-ONE _F JFD 01362 UKL POA	MFCD00277796
	SALOR 4-(4-METHOXY-PHENYL)-2-OXO-PYRROLIDINE-3-CARBOXYLIC ACID DATE: 04/01/97 EDITION: 97 _F R23,622-5 10 MG USD POA	MFCD00297824
	SIGMA (+)-EPIBATIDINE HYDROCHLORIDE 152885-09-1 _F E1020 1 MG USD 51.40 _F E1020 5 MG USD 171.20	MFCD00467208
	LATOXAN FLUOROCURARINE CHLORIDE A SHORT-ACTING SELECTIVE SYMPATHETIC GANGLIOBLOCKER, WITH A WEAK ANTAGONIST ACTIVITY ON THE NICOTINIC RECEPTOR AT THE NEUROMUSCULAR JUNCTION; HYPOTENSIVE ALKALOID ASSAY METHOD: BY TLC, M...	MFCD00467712
	TORONTO (1'S,2'S)-NICOTINE 1'-OXIDE A METABOLITE OF NICOTINE _F N42750 100 MG USD 77.00 _F N42750 1 G USD 612.00	MFCD00869528
	SPECS SPECS CIF7952 _F CIF7952 USD POA	MFCD01114864
	MAYBRIDGE 2-ETHYL-2-(3-METHOXYPHENYL)PYRROLIDINE _F RH 01438 UKL POA	MFCD01314146



MAYBRIDGE
N-(TERT-BUTYL)-2-(ISOXAZOL-5-
YLCARBONYL)DECAHYDROISOQUINOLINE-3-
CARBOXAMIDE

MFCD01314517

_F SPB 08050

UKL

POA